Aus der Medizinischen Klinik A
der Universität Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. med. Schneider

Einfluß von Digoxin auf die Na^+K^+ATPase in Mark und Rinde der Hundeniere. Untersuchungen zur Methodik und zur Auswirkung auf den renalen Kaliumtransport.

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin.
Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von
Wolfgang Jenkel und Jens Sander
1981

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536504_0056

Aus der Medizinischen Klinik A
der Universität Düsseldorf
Direktor : Prof.Dr.med. Schneider

Einfluß von Digoxin auf die Na^+K^+ATPase in Mark und Rinde der Hundeniere. Untersuchungen zur Methodik und zur Auswirkung auf den renalen Kaliumtransport.

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin.
Der medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Wolfgang Jenkel und Jens Sander

1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf
gez.: Prof. Dr. Straßburg

Referent
gez.: Prof. Dr. Grabensee

Korreferent
gez.: Prof. Dr. Noack

Inhaltsverzeichnis

	Seite
0. Einleitung	4
1. Problemstellung	11
2. Versuchsdurchführung	13
2.1 Versuchsaufbau	13
2.2 Methodik	14
2.2.1 Bestimmung der Enzymaktivität über den Rubidiumtransport	14
2.2.2 Bestimmung der Enzymaktivität über die Phosphatfreisetzung	16
2.3 Digoxinbestimmung	18
2.3.1 Das Prinzip der radioimmunologischen Bestimmungen	18
2.3.2 Radioimmunotest für Digoxin	19
2.4 Kaliumbestimmung	19
3. Ergebnisse	21
3.1 Hemmbarkeit der Na^+K^+ATPase durch Ouabain	21
3.2 Auswirkung der Digoxinintoxikation auf die Na^+K^+ATPase der einzelnen Nierenabschnitte	21
3.3 Korrelation der beiden Methoden	27
3.4 Serumkaliumspiegel	31
3.5 Kaliumclearance	31
3.6 Digoxinspiegel	39
4. Diskussion	42
5. Zusammenfassung	48
6. Literaturverzeichnis	50

Verwendete Substanzen

Digoxin (Novodigal^{R}) Beiersdorf Hamburg

$^{86}Rb^{+}$ als wässrige Lösung von RbCl mit spez. Aktivität von 1-8 mCi/mg Rb, Amershan und Buchler Braunschweig

Bestell- Nr. :RGS - 2

Ouabain g-Strophantin krist. reinst, Serva Feinbiochemica Heidelberg

RbCl ,Serva Feinbiochemica Heidelberg

EDTA ,Serva Feinbiochemica Heidelberg

NaDOC rein , Serva Feinbiochemica Heidelberg

ATP Adenosin 5'triphosphat Na_2Salz krist. p.A. 98% Serva Feinbiochemica Heidelberg

Phosphoringotest^{R} Boehringer Ingelheim

Digoxin Radioimmunoassay Kit ^{3}H (Becton Dickinson)

KCl, NaCl, $NaHCO_3$, $MgCl_2$, $CaCl_2$, Glucose, NaH_2PO_4, Saccharose, TRIS und Trichloressigsäure von Merck Darmstadt

0. Einleitung

Seit langem ist es bekannt, daß die von der Niere geleistete Sekretion bestimmter Stoffe in den Harn und ebenso auch die Rückresorption von Wasser und gelösten Stoffen in die Blutbahn zum großen Teil an einen aktiven Transport gebunden ist (P. B. Rehberg 1926, K. Hierholzer 1964, B. R. Nechay 1974). Man spricht deshalb von aktivem Transport, weil er im Gegensatz zur Diffusion oder Osmose gegen ein Konzentrationsgefälle erfolgt. Es handelt sich um einen Vektor, der von seiner Funktion her auch für die Regulation und Aufrechterhaltung von Gleichgewichtszuständen des Stoffwechselgeschehens von Bedeutung ist. Das aktive Transportsystem ist ein Energie verbrauchender Prozeß ; meistens ist die Spaltung (Hydrolyse) von Adenosintriphosphat (ATP) der Energielieferant - Lipmann beschrieb diesen Vorgang 1941.

ATP, das erstmals von Fiske und Subbarow 1925 aus sauren Muskelextrakten isoliert wurde, wird durch das Enzym ATPase gespalten. Die ATPase hydrolysiert ATP zu Adenosindiphosphat (ADP) und Orthophosphat (P_i).
Es gilt die Gleichung:

$$ATP \xrightarrow{ATPase} ADP + P_i + cal$$

Bereits 1957 wurde die ATPase von J. C. Skou näher untersucht. Über die Lokalisation des Enzyms in der Zelle ist bekannt, daß es sich nicht nur an Zellgrenzmembranen, sondern auch in Mitochondrien (E. A. Noack 1966) und an Microsomen (P. L. Jörgensen 1969) findet. Die Na^+K^+ATPase hat verschiedene Bindungsstellen, wobei an der Membraninnenseite eine Bindungsstelle lokalisiert ist, die eine hohe Affinität zu Natriumionen und eine geringe Affinität zu Kaliumionen besitzt; während die Bindungsstelle an der Membranaußenseite eine hohe Affinität zu Kaliumionen und eine geringe zu Natriumionen aufweist (J. C. Skou 1961).

Das Na^+K^+ATPase abhängige Transportsystem hält die Na^+- und K^+ Konzentration der Zelle aufrecht, indem K^+ in die Zelle und Na^+ aus der Zelle gepumpt wird; es findet somit ein Ionenaustausch statt. Der Umwandlungsmechanismus ATP-Energie in Ionenfluß ist letztendlich noch nicht geklärt (G. E. Lindenmayer 1974). Das Funktionieren dieses Enzyms ist also als lebenswichtig für die Zelle anzusehen (S. Pettersson 1973).

Die Aktivität des Enzyms ändert sich mit dem Ionenangebot in dem umgebenden Medium. So konnte die Na^+K^+ATPase als ein von Natrium- und Kaliumionen abhängiges Enzym bewiesen werden; d.h. diese

Ionen üben einen aktivitätssteigernden Effekt aus (J. C. Skou 1960, K. Greeff 1963). Die Abhängigkeit von Natrium- und Kaliumionen unterscheidet das Enzym von anderen ATPasen. Neben diesen Ionen benötigt die Na^+K^+ATPase jedoch wie alle anderen ATP umsetzenden Enzymsysteme noch Magnesiumionen zur Entfaltung ihrer Aktivität (J. C. Skou 1957). Von Calciumionen wird die Na^+K^+ATPase gehemmt (J. C. Skou 1965, E. A. Noack 1966).

H. J. Schatzmann berichtete 1953 von einer Hemmung des aktiven Kationentransports durch die Erythrocytenmembran durch das Herzglykosid Ouabain (Strophantin G). Diese Hemmung ist eine charakteristische Eigenschaft der Na^+K^+ATPase (J. C. Skou 1957) und entsteht dadurch, daß Digitalis Kalium kompetitiv an der Enzymbindungsstelle verdrängt (A. Katz 1968, E. Erdmann 1976). In Versuchen an lebenden narkotisierten Hunden gelang es J. Torretti 1972 diese Enzymhemmung nachzuweisen.

Neben Herzglykosiden üben auch andere Medikamente eine Wirkung auf die Aktivität der Na^+K^+ATPase aus z.B. Glukokortikoide (K. Greeff und H. Dransfeld 1964, K. A. Fisher 1975) und Insulin (Th. J. Hougen 1978).

Eine systematische Studie über die Verteilung des Enzyms im Säugetierorganismus fertigte Bonting

1961 an. Er konnte die Na^+K^+ATPase in vielen Geweben nachweisen. Die höchste Enzymaktivität fand er im Gehirn und in Geweben mit sekretorischer Funktion wie zum Beispiel in der Niere und im Plexus chorioideus, während Gewebe mit geringer Zelldichte (Fettgewebe, Hornhaut) bzw. ohne Zellen (Glaskörper) keine Aktivität besitzen sollen.

Über den chemischen Aufbau der Na^+K^+ATPase ist zu sagen, daß sie sich hauptsächlich aus zwei verschiedenen Polypeptidketten zusammensetzt; die Molekulargewichte belaufen sich auf 96 000 bzw. auf 57 000 (P. L. Jörgensen 1974).

In der Niere ist die Na^+K^+ATPase der entscheidende Faktor des aktiven Transportmechanismus für die Rückresorption von K^+ aus dem gesamten Tubuluslumen indem gegen ein Konzentrationsgefälle gepumpt wird (K. Hierholzer 1964). Die Rückresorption von Na^+ verläuft dagegen nur zum Teil über die Na^+K^+ATPase, hierfür stehen der Niere noch andere Transportmechanismen zur Verfügung (J. Torretti 1972, F. H. Epstein und P. Silva 1974, B. R. Nechay 1974). Der aktive Na^+ Transport findet größtenteils in dem breiten Ast der Henle'schen Schleife statt (C. W. Gottschalk 1961).

Die Sekretion von K^+ ist nach K. Hierholzer 1976 und P. Deetjen 1976 kein an die Na^+K^+ATPase gebundener Transportmechanismus, sondern erfolgt

durch ein elektrochemisches Potentialgefälle entlang des distalen Tubulus (G. Giebisch 1964).

Fast überall im Tubulus folgen die Anionen den Kationen passiv, jedoch ist auch ein aktiver Chlortransport zumindest für den distalen Tubulus bekannt (K. Hierholzer 1964, G. Giebisch 1964). Dieser aktive Chlortransport wird z.B. durch Furosemid gehemmt (H.-H. Wellhöner 1976).

Nach H. Wald 1974 liegt die Na^+K^+ abhängige ATPase in Papille, Medulla und Cortex der Rattenniere in unterschiedlicher Aktivität vor. Diese Ergebnisse konnten auch von anderen Autoren nachgewiesen werden:

P. L. Jörgensen 1969 an Ratten- u. Kaninchennieren
J. Torretti 1972 an Hundenieren
S. Pettersson 1973 an Menschennieren
B. R. Nechay 1974 an Hunde- u. Menschennieren

So wurde beispielsweise in der äußeren (roten) Medulla eine höhere Aktivität ermittelt als im Cortex.

Aus beschriebenen Eigenschaften der Na^+K^+ATPase lassen sich zwei voneinander unterschiedliche Bestimmungsmethoden ableiten:

1. Die Darstellung des Enzyms aus Microsomen mittels Ultrazentrifugation und Anwendung von bestimmten Detergentien. Die anschließende Bestimmung des durch die Spaltung von ATP frei werdenden anorganischen

Phosphats dient als Aktivitätsmaß des Enzyms. Dieses Verfahren wurde in abgewandelter Form von J. C. Skou 1960, P. L. Jörgensen 1969, B. J. Pitts 1973 und H. Wald 1974 beschrieben, um nur einige Autoren zu nennen.

2. Die Pumpleistung der Na^+K^+ATPase

Mit Hilfe von radioaktiv markiertem Kalium ($^{42}K^+$) kann man diese aktive Transportleistung des Enzyms in lebenden Zellen bestimmen (L. A. Hahn 1939, J. C. Bernstein 1970). In Anrechnung der kurzen Halbwertszeit von $^{42}K^+$ (12,4 Stunden) ist man dazu übergegangen, an Stelle des radioaktiven Kaliums radioaktives Rubidium mit einer Halbwertszeit von $^{86}Rb^+$ = 18,6 Tagen zu verwenden. Hierzu ist man berechtigt, da Rb^+ analog K^+ transportiert wird (S. Ringer 1882, A. K. Solomon 1952, F. P. Castronovo 1967, J. C. Bernstein 1970). K^+ kann außerdem noch durch Cs^+, Li^+ und NH_4^+ ersetzt werden, wohingegen Na^+ gegen kein anderes Kation ausgetauscht werden kann (J. C. Skou 1965, A. Katz 1968).

Der Na^+K^+ATPase abhängige Rubidiumtransport wird genauso wie der entsprechende Kaliumtransport nach J. C. Bernstein 1970 und T. Risler 1978 durch Ouabain gehemmt. Das aufgenommene $^{86}Rb^+$ wird gemessen.

Seitdem es mittels radioimmunologischer Bestimmungen möglich ist, den Digoxinserumspiegel zu messen, hat die Ermittlung der Aktivität der Na^+K^+ATPase an Bedeutung gewonnen, da man den Umfang der Hemmung der ATPase in Relation zum Digoxinserumspiegel setzen kann (T. W. Smith 1969).

1. Problemstellung

Die Aktivität der Na^+K^+ATPase kann auf zwei grundsätzlich verschiedene Weisen bestimmt werden:

I. über ihre Pumpwirkung ("Na^+K^+ Pumpe")
(T. J. Hougen 1977, T. Risler 1978)
Die Na^+K^+ATPase transportiert K^+ in die Zelle hinein und Na^+ aus der Zelle heraus. Da Rb^+ analog K^+ transportiert wird und $^{86}Rb^+$ eine längere Halbwertszeit hat, mißt man die Rubidiumaufnahme in das Gewebe pro Zeiteinheit und nimmt sie als Maß für die Aktivität der Na^+K^+ATPase.

II. über die von der Na^+K^+ATPase durchgeführte Spaltung von ATP in ADP und P_i

$$ATP \xrightarrow{Na^+K^+ATPase} ADP + P_i,$$

wobei das freigesetzte anorganische Phosphat bestimmt wird und als Maß für die Aktivität gilt (P. L. Jörgensen 1970, H. Wald 1974).

Das Interesse galt dem Vergleich dieser beiden aufgeführten Methoden unter besonderer Berücksichtigung des Einflusses von Digoxingaben am lebenden Organismus (Hund). Die Frage war, inwieweit die beiden aufgeführten Methoden korrelieren und wie die Hemmung der Na^+K^+ATPase durch Digoxin sich in beiden Methoden ausdrückt. Als Untersuchungsmaterial

sollte Nierengewebe dienen, und zwar Nierenrinde (Cortex) und gesammtes Nierenmark (Medulla). Darüber hinaus veranlaßte uns eine in der Klinik zu beobachtende Entgleisung der Serumkaliumkonzentration bei digitalisierten Patienten, den Einfluß von Digoxin auf die Kaliumclearance und den Serumkaliumspiegel bei unseren Versuchstieren näher zu untersuchen. Hierzu mußten die Serumkaliumwerte, die Serumdigoxinwerte und die Kaliumkonzentration im Harn bestimmt werden.

2. Versuchsdurchführung

2.1 Versuchsaufbau

Wir führten unsere Versuche an zwölf Hunden (Mischlinge) beiderlei Geschlechts, die keine besondere Diät erhalten hatten, durch. Die Tiere hatten ein Gewicht von 19 bis 29 kg und wurden mit Pentobarbital (Nembutal^{R}) 30 mg/kg Körpergewicht narkotisiert. Nach der Intubation mit einem Endotrachealtubus wurden die Hunde entsprechend ihrer Größe mit atmosphärischer Luft beatmet.

Es wurde umgehend Venaesectio an beiden Femoralvenen durchgeführt und sofort Infusionen von 5 %iger Glukose- und 0,9 %iger NaCl-Lösung angelegt. Die Infusionsgeschwindigkeit für die physiologische Kochsalzlösung betrug 0,2 ml/kg min.

Anschließend wurde das Abdomen mittels Medianschnitts eröffnet und die Ureteren freipräpariert. Beide Ureteren wurden katheterisiert.

Das eröffnete Abdomen wurde mit warmen feuchten Tüchern abgedeckt, um größere Wasserverluste infolge Verdunstung aus der Wunde zu vermeiden.

Sechs Hunden wurde 2 µg/kg Körpergewicht/min Digoxin (Novodigal^{R}) mittels Perfusionsgerät verabreicht.

Während des ganzen Versuchs wurde in fünfzehnminütigem Abstand Blut aus den Femoralvenen entnommen und Urin unter Einhaltung von 15-Minuten-Intervallen

gesammelt, um daraus später die K^+- und Digoxinwerte zu bestimmen.
Den sechs nicht digitalisierten Hunden wurden nach einer Stunde die Nieren entnommen, während die Nephrektomie bei den sechs digitalisierten Hunden erst durchgeführt wurde, als im EKG eine konstante Kammertachycardie als Ausdruck einer Digitalisintoxikation nachzuweisen war.
Die Nieren wurden unmittelbar nach ihrer Exstirpation aus den Hunden und nach Entfernen der Nierenkapsel durch Sagittalschnitt in zwei Hälften geteilt. Cortex und Medulla wurden herauspräpariert - dies ist makroskopisch gut durchführbar, da die einzelnen Nierenabschnitte sich in Farbe und Konsistenz voneinander abheben.

2.2 Methodik

2.2.1 Bestimmung der Enzymaktivität über den Rb^+- Transport

2.2.1.1 Die Nierenrinde und das Nierenmark wurden weiter in kleinste Gewebestücke, deren Gewichte im Bereich von 20 bis 80 mg lagen, unterteilt. 20 Gewebestücke je Nierenabschnitt wurden sofort in ein Medium gebracht, das auf 30° C erwärmt wurde und wie folgt zusammengestellt war:
4,0 mM KCl / 120,0 mM NaCl / 24,0 mM $NaHCO_3$ / 20,0 mM $MgCl_2$ / 2,5 mM $CaCl_2$ / 5,6 mM Glukose /

1,1 mM NaH_2PO_4, eingestellt auf einen pH-Wert von 7,4. Die Inkubationszeit betrug 10 min, während der die Proben mit 95% O_2 und 5% CO_2 oxigeniert wurden. Anschließend wurden die so behandelten Gewebestücke in Röhrchen (5 Gewebestücke pro Röhrchen) umgefüllt, die 5ml des gleichen Mediums enthielten, jedoch mit dem Zusatz von $^{86}Rb^+$ und Rb^+ mit einer Endkonzentration von 0,1 mM (entspricht 1,2 - 1,8 x 10^5 counts/min/5ml). Die Hälfte der Proben wurde in Anwesenheit, die andere Hälfte in Abwesenheit von 10^{-3} M Ouabain für 30 min bei 30° C im "Shaking Water Bath" inkubiert. Sämtliche Proben wurden während der Inkubation mit Carbogen oxigeniert. Nach Beendigung der Inkubationszeit wurden die Gewebeproben jeweils in Phosphatpuffer ausgespült und in Szintillationsröhrchen mit 1 ml H_2O gegeben. Dann wurde die Cerenkov-Strahlung im Szintillationszähler (Firma Packard) bestimmt. Die aktive Rb^+- Aufnahme wurde als Differenz in Gegenwart und Abwesenheit von 10^{-3} M Ouabain in nmol Rb^+/mg Naßgewicht/Stunde ermittelt. Das Naßgewicht der Gewebestücke wurde auf der Analysenwaage bestimmt.

2.2.1.2. Vorversuch

Zur Ermittlung der maximalen Hemmbarkeit der Na^+K^+ATPase durch Ouabain wurden 70 Gewebeproben von Cortex Medulla mit unterschiedlichen

Molaritäten Ouabain (10^{-9}, 10^{-8}, 10^{-7}, 10^{-6}, 10^{-5}, 10^{-4}, 10^{-3}) als Zusatz zum Medium der Rubidiummethode unter Oxigenierung mit 95 % O_2 und 5 % CO_2 30 min bei 30° C inkubiert. Pro Molarität wurden fünf Gewebeproben jeweils aus Cortex und Medulla verwandt. 10 Proben Cortex und ebenso 10 Stücke Medulla, die nicht mit Ouabain inkubiert wurden, dienten als Vergleichswert. Die weitere Bearbeitung der Proben erfolgte analog der Rubidiummethode.

2.2.2 Darstellung der Proteinlösung und Aktivitätsbestimmung

Die aus der Niere gewonnenen Gewebeproben (s. Versuchsaufbau) wurden gewogen und anschließend mit Pufferlösung im Verhältnis 10:1 homogenisiert. Der Puffer bestand aus 0,25 M Saccharose, 2 mM EDTA und 5 mM Tris (Medium I). Der pH-Wert betrug 7,4. Die Homogenisierung erfolgte mit einem Ultraturax^{R}. Dieser und alle folgenden Schritte wurden im Eisbad bzw. in der gekühlten Ultrazentrifuge durchgeführt. Das Homogenat wurde in der Ultrazentrifuge bei 2000 g 15 min zentrifugiert. Der Überstand wurde behalten, während der Niederschlag suspendiert wurde und erneut im Verhältnis 10:1 mit Medium I homogenisiert wurde.

Das Homogenat wurde ebenfalls 15 min lang bei 2000g

zentrifugiert. Der entstandene Überstand wurde mit dem Überstand der ersten Zentrifugation vereinigt, um das Gemisch bei 100 000 g für 40 min zu zentrifugieren.

Der Niederschlag aus der Zentrifugation der vereinigten Überstände wurde mit dem Medium I im Verhältnis 1:1 homogenisiert. Dazu wurden 9 Teile eines hypotonen Puffers gegeben. Zusammensetzung des hypotonen Puffers: 0,67 mg/ml NaDOC, 2 mM EDTA und 26 mM Tris, pH 7,0.

Dieser Ansatz wurde 30 min bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend mit 1500 g 30 min zentrifugiert. Der Überstand hieraus wurde bei 27 000 g 30 min lang zentrifugiert. Der Niederschlag dieser Zentrifugation wurde im Medium I suspendiert (Proteinlösung).

Aus dieser Proteinlösung wurde die Aktivität der Ouabain hemmbaren Na^+K^+ATPase bestimmt. Hierzu wurden 50 µl Proteinlösung in 1,5 ml Pufferlösung (100 mM NaCl, 10 mM KCl, 4 mM $MgCl_2$, 33 mM Tris) 10 min bei 37° C im "Shaking Water Bath" vorinkubiert. Einer Hälfte der Proben wurde 10^{-3} M Ouabain zugegeben. Anschließend erfolgte eine Inkubation mit 4 mM ATP für 15 min. Die ATP-Zugabe war der Reaktionsstart. Die Reaktion wurde mit Trichloressigsäure gestoppt. Danach wurde die Probenlösung mit 4000 rpm 6 min zentrifugiert.

Die freigesetzte Phosphatmenge wurde mit der Molybdänblau - Methode von Boehringer (Ingotest) bestimmt.
Als Aktivitätsmaß der Na^+K^+ATPase galt das freigesetzte anorganische Phosphat, das sich als Differenz der Phosphatmengen der mit Ouabain gehemmten Proben und der nicht gehemmten Proben ergab.
Als Bezugsgröße wählten wir auch hier mg Gewebe.
Daraus ergab sich folgende Einheit:
nmol P_i / mg Gewebe / h.

2.3 Digoxinbestimmung

2.3.1 Prinzip der radioimmunologischen Bestimmungen

Das radioimmunologische Verfahren ist auf Yalow und Berson 1960 zurückzuführen, die als erste auf die Möglichkeit hingewiesen haben, spezifische Antikörper zu radioimmunologischen Bestimmungen geringer Konzentrationen von Polypeptidhormonen (Insulin) zu verwenden.
Das Prinzip der angewandten Teste beruht für gewöhnlich auf der Gleichung:

$$\text{Antigen} + H^3\text{-Antigen} + \text{Antikörper} \longrightarrow \text{Antigen-}H^3\text{-Antikörperkomplex/Antigen-Antikörperkompl.+ } H^3\text{-Antigen}$$

Antigen verdrängt H^3-Antigen aus dem Komplex, der im Szintillationszähler gemessen wird.

2.3.2 Radioimmunotest für Digoxin

Bei der Digoxinbestimmung verdrängt das nicht markierte Digoxin kompetetiv das H^3-Digoxin von seiner Bindungsstelle am Antikörper, so daß die zu messende Radioaktivität im umgekehrten Verhältnis zum Digoxinspiegel im zu untersuchenden Serum steht (T. W. Smith 1969).

Die Trennung von gebundenem und freiem Digoxin erfolgt mittels Holzkohle, die das freie Digoxin bindet und es somit in der Zentrifuge abzentrifugiert werden kann. Der Überstand wird dekantiert, um im Szintillationszähler seinen Gehalt an H^3-Digoxin (gebunden) zu bestimmen. Da die gemessene Radioaktivität keine direkte Aussage über den wahren Digoxinwert macht, müssen Standardseren, die einen bekannten Digoxingehalt in ng/ml enthalten, mitgeführt werden und eine Kurve erstellt werden.

Die Versuchsdurchführung erfolgte nach den Vorschriften der Firma Becton Dickinson.

2.4 Kaliumbestimmung

Die Kaliumbestimmung im Serum und Urin wurde mittels der flammenphotometrischen Bestimmung mit Indirektzerstäuber durchgeführt.

Die Berechnung der Clearance darf laut P. Balint (1969) nach der Formel $\frac{C_u \times V_u}{C_p}$ für jede Substanz, die im Plasma vorhanden ist und über den Urin ausgeschieden wird, erfolgen.

C_u = Konz. im Urin, V_u = Urinvolumen, C_p = Konz. im Serum

Erstmals beschrieben wurde die Formel 1926 von P. B. Rehberg. Die Einheit der Clearance wird in ml/min angegeben. Bei Stoffen, die weder tubulär sezerniert noch rückresorbiert werden, entspricht die Clearance der glomerulären Filtrationsrate, ist also diejenige Blutmenge, die pro Zeiteinheit von dem bestimmten Stoff befreit wird. (P. Balint 1969)

Da Kalium sowohl tubulär sezerniert als auch rückresorbiert wird, handelt es sich bei der Kalium-Clearance um eine virtuelle Größe, die ein Maß für die Kaliumausscheidung ist.

Unsere Werte wurden für die Einheit µl/min/kg Körpergewicht berechnet.

3. Ergebnisse

Die statistische Auswertung erfolgte mittels t-Test nach Student. Werte von $p < 0,05$ wurden als signifikant betrachtet.

3.1 Hemmbarkeit der Na^+K^+ATPase durch Ouabain

Da es galt, die Ouabain hemmbare Na^+K^+ATPase in vitro zu bestimmen, wurden, wie bereits erwähnt, Vorversuche durchgeführt. In diesen Versuchen wurde festgestellt, bei welcher Molarität die beste Enzymhemmung vorlag.

Die ermittelte Kurve ergab die I_{50} zwischen 10^{-5} und 10^{-6} M Ouabain und die beste Hemmung bei einer Konzentration von 10^{-3} M sowohl für Cortex als auch für Medulla (Fig. 1). Sollte in der Versuchsvorschrift Ouabain zur Hemmung der Na^+K^+ATPase verwandt werden, so geschah dies mit 10^{-3} M Ouabain.

3.2 Auswirkung der Digitalisintoxikation auf die Na^+K^+ATPase der einzelnen Nierenabschnitte

Bei der Enzymdarstellungsmethode konnte ein signifikanter Unterschied zwischen der Enzymaktivität in der Nierenrinde nicht digitalisierter und digitalisierter Hunde nachgewiesen werden.
Die Hemmung betrug im Mittel 70 % mit $p < 0,001$ und zwar von $18,17 \pm 5,36$ auf $5,13 \pm 3,62$ nmol P_i/mg/h (Fig. 2, Tab. 1), wohingegen die Hemmung der

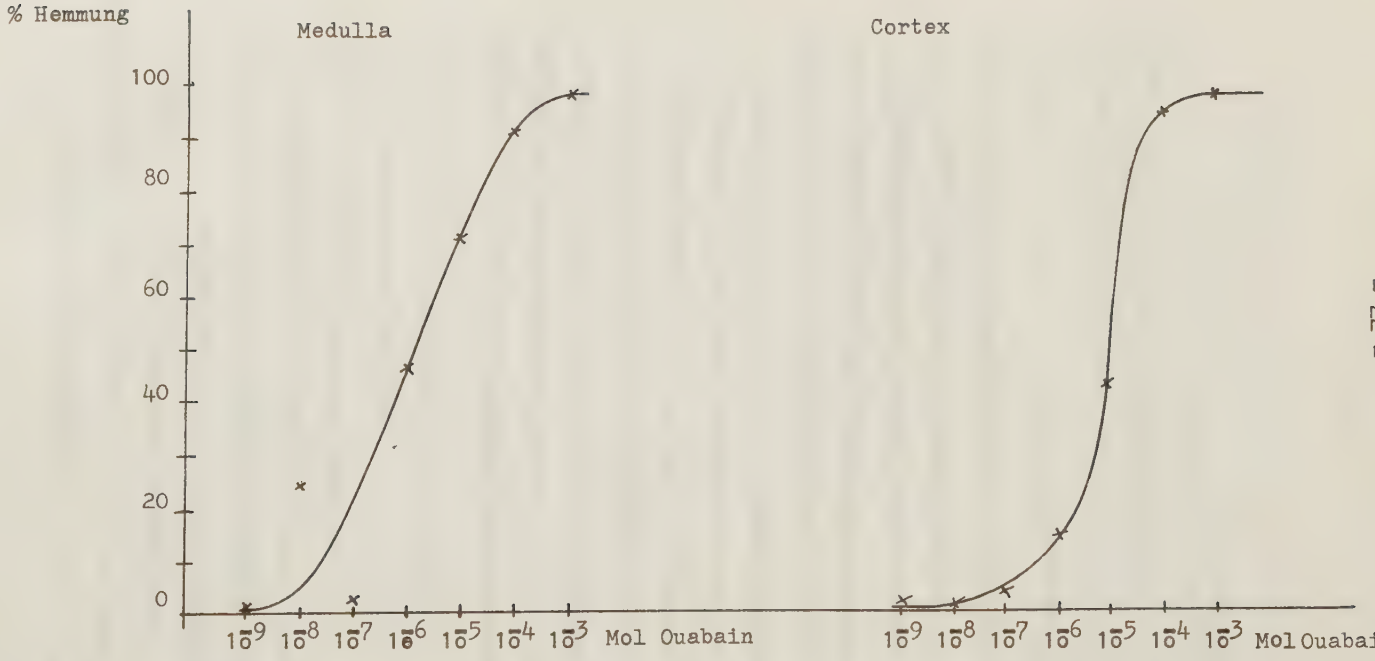

Fig. 1 Hemmung der Na^+K^+ATPase (in Prozent der Aktivität ohne Ouabaingabe) durch verschiedene Ouabainkonzentrationen für Medulla und Cortex der Niere. I_{50} bei 10^{-5} - 10^{-6}Mol Ouabain.

Na^+K^+ATPase im gesamten Nierenmark (Kontrollhunde/ digit. Hunde) bei 95 % lag. Die Aktivität nahm von 6,02 ± 5,2 auf 0,23 ± 0,44 nmol P_i/mg/h ab ($p < 0,023$) (Fig. 2, Tab. 1).

Fig. 2 Aktivität der Na^+K^+ATPase in Cortex und Medulla der Niere (Mittelwert mit Standardabweichung), bestimmt durch die Enzymdarstellungsmethode

Weiterhin zeigten unsere Versuche unterschiedliche Aktivität des Enzyms in Cortex und Medulla, wobei die Aktivität der Medulla 33 % der Aktivität des Cortex betrug mit $p < 0,003$ für nicht digitalisierte Hunde, während diese Differenz bei Tieren mit einer Digitalisintoxikation noch höher war. Hier hatte die Medulla nur 6 % der Cortex-Aktivität mit $p < 0,009$.

Cortex				Medulla			
Kontroll-hund	nmol P_i/mg/h	digit. Hund	nmol P_i/mg/h	Kontroll-hund	nmol P_i/mg/h	digit. Hund	nmol P_i/mg/h
1	19,0	1	9,18	1	7,14	1	0,00
2	21,8	2	0,00	2	2,62	2	0,00
3	12,9	3	7,66	3	14,00	3	0,18
4	25,0	4	3,27	4	1,07	4	0,76
5	19,44	5	2,80	5	9,76	5	0,00
6	10,84	6	7,86	6	1,52	6	0,98
	18,17 ± 5,36		5,13 ± 3,62		6,02 ± 5,2		0,32 ± 0,44
	p < 0,001				p < 0,023		

Tab. 1 Aktivität der Na^+K^+ATPase in Cortex und Medulla von Hundenieren
Die Bestimmung erfolgte nach der Enzymdarstellungsmethode in nmol P_i/mg/h.
6 Hunde wurden mit 2 µg Novodigal^R/min/kg Körpergewicht infundiert.
6 Hunde wurden nicht digitalisiert (Kontrolle).

Im Cortex digitalisierter Hunde zeigte sich bei der Rubidiummethode im Mittel eine Hemmung von 42 %, von 0,273 ± 0,083 auf 0,158 ± 0,063 nmol Rb^+/mg/h ($p < 0,023$) (Fig. 3, Tab. 2). Die Na^+K^+ATPase der Medulla war hier in ihrer Aktivität um 37 % gehemmt, von 0,3 ± 0,064 auf 0,188 ± 0,066 nmol Rb^+/mg/h ($p < 0,014$) (Fig. 3, Tab. 2).
Eine Signifikanz konnte beim Vergleich der Enzymaktivität von Cortex zu Medulla weder bei den Kontrollhunden, noch bei den digitalisierten Hunden festgestellt werden.

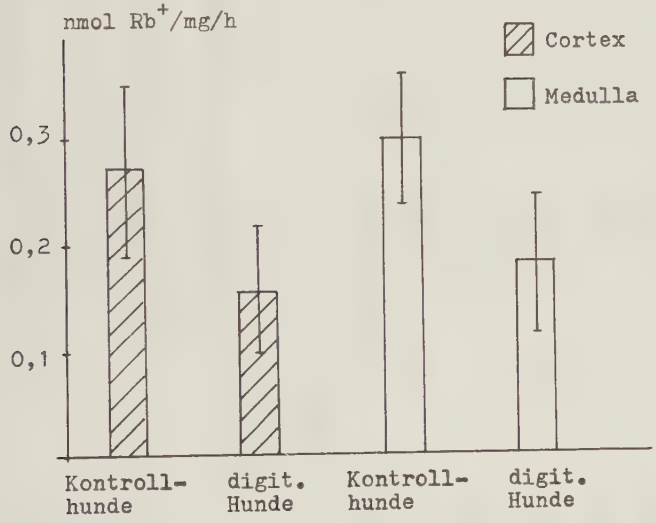

Fig. 3 Aktivität der Na^+K^+ATPase in Cortex und Medulla der Niere (Mittelwert mit Standardabweichung), bestimmt durch die Rubidiummethode.

Cortex				Medulla			
Kontroll-hund	nmol Rb^+/mg/h	digit. Hund	nmol Rb^+/mg/h	Kontoll-hund	nmol Rb^+/mg/h	digit. Hund	nmol Rb^+/mg/h
1	0,314	1	0,077	1	0,329	1	0,092
2	0,352	2	0,138	2	0,325	2	0,243
3	0,276	3	0,154	3	0,312	3	0,127
4	0,113	4	0,243	4	0,175	4	0,249
5	0,308	5	0,223	5	0,303	5	0,234
6	0,274	6	0,118	6	0,356	6	0,182
	0,273 ± 0,083		0,158 ± 0,063		0,300 ± 0,064		0,188 ± 0,066
	$p < 0,023$				$p < 0,014$		

Tab. 2 Aktivität der Na^+K^+ATPase in Cortex und Medulla von Hundenieren
Die Bestimmung erfolgte nach der Rubidiummethode in nmol Rb^+/mg/h.
6 Hunde wurden mit 2 µg Novodigal^R/min/kg Körpergewicht infundiert.
6 Hunde wurden nicht digitalisiert (Kontrolle).

3.3 Untersuchung der beiden Methoden auf Korrelation

Verglich man die Werte der beiden Bestimmungsmethoden, so ergab sich für die gesamten Cortexproben eine positive lineare Korrelation mit $r = 0{,}69$ ($p < 0{,}02$). Für die Regressionsgerade galt die Gleichung $y = 0{,}55\ x - 2$ (Fig. 4). Für die Medullaproben ergab sich keine signifikante Korrelation ($r = 0{,}55$ n.s.) (Fig. 5). Die Korrelation für die Gesamtheit aller Proben war wieder signifikant mit $r = 0{,}46$ ($p < 0{,}03$). Die Regressionsgerade hatte die Gleichung $y = 0{,}4\ x - 2$ (Fig. 6).

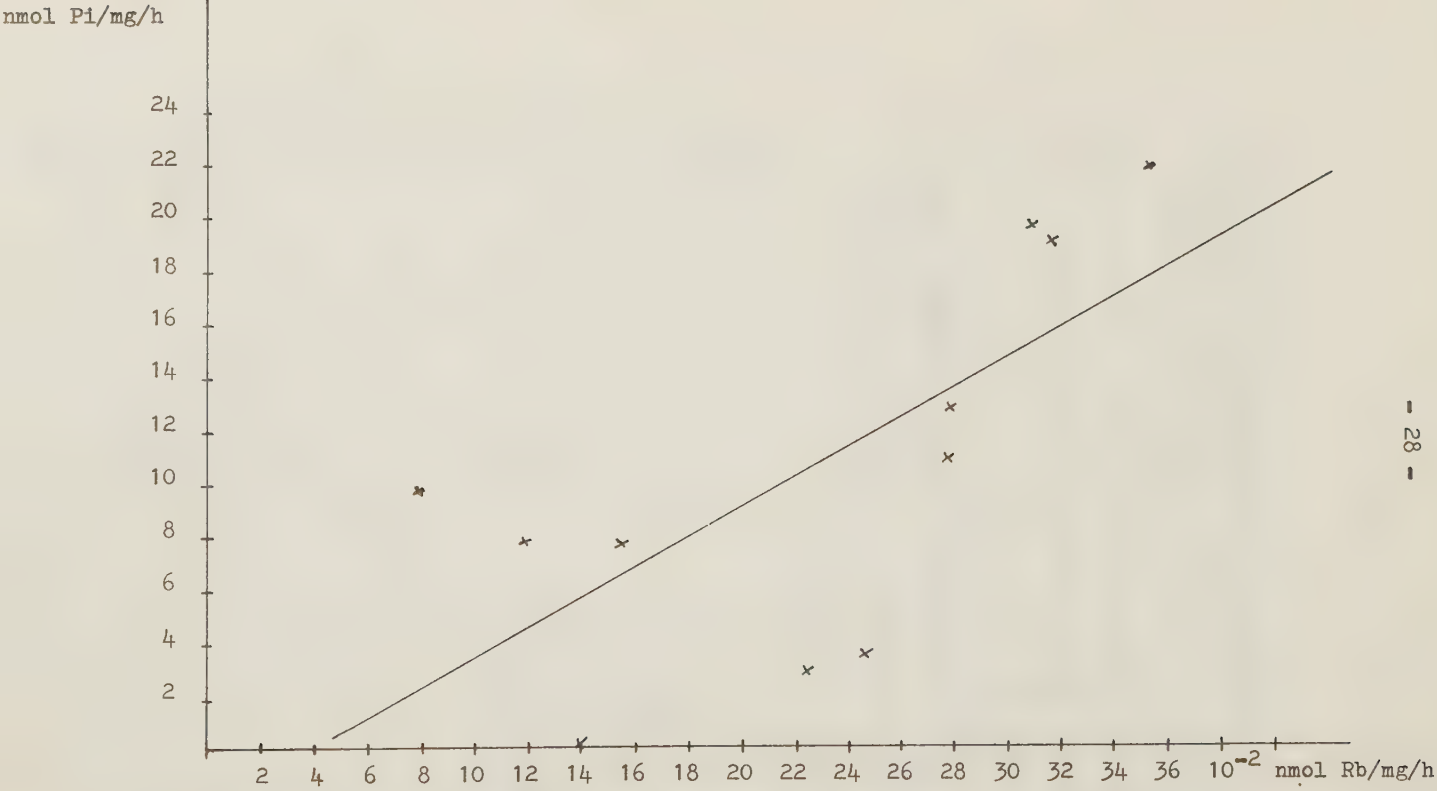

Fig. 4 Korrelation von den Werten der zwei Methoden zur Bestimmung der Aktivität der Na^+K^+ ATPase (Rb-Methode in nmol Rb^+/mg/h, Enzymdarstellungsmethode in nmol Pi/mg/h) für die Nierenrinde aller 12 Hunde (sowohl digitalisierte als auch Kontrollhunde). Die Gerade beschreibt den Verlauf der Regressionsgeraden.

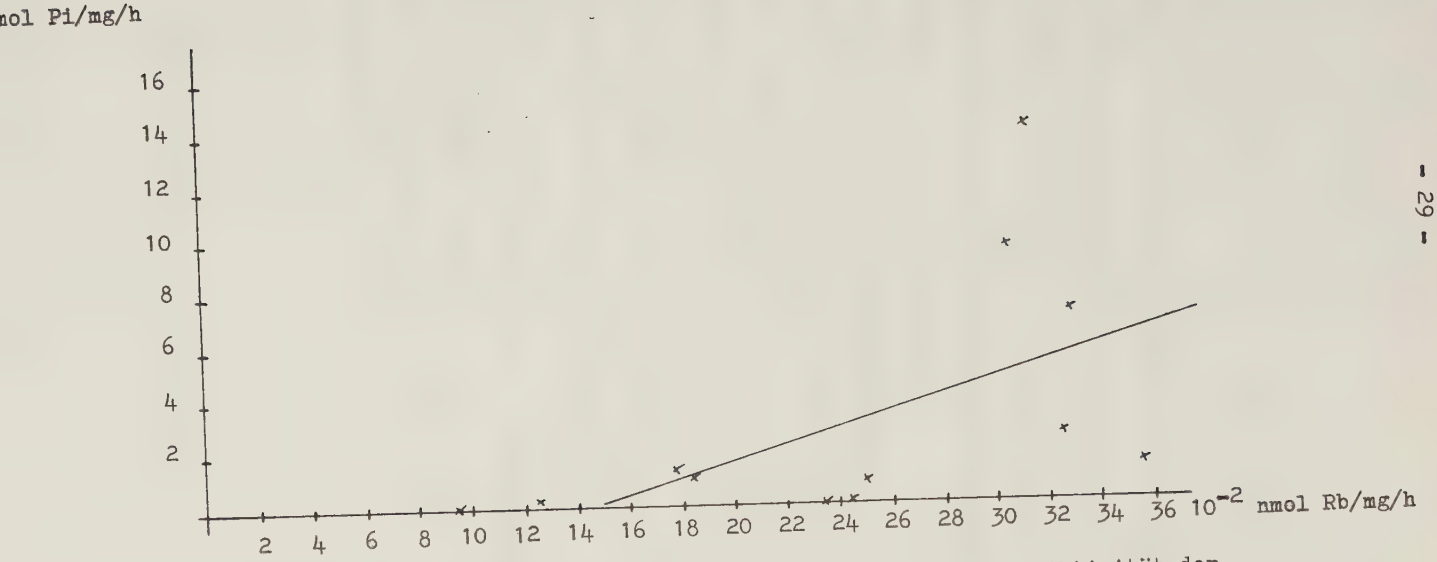

Fig. 5 Korrelation von den Werten der zwei Methoden zur Bestimmung der Aktivität der Na^+K^+ATPase (Rb-Methode in nmol Rb^+/mg/h, Enzymdarstellungsmethode in nmol Pi/mg/h) für das Nierenmark aller 12 Hunde (sowohl digitalisierte als auch Kontrollhunde). Die Gerade beschreibt den Verlauf der Regressionsgeraden.

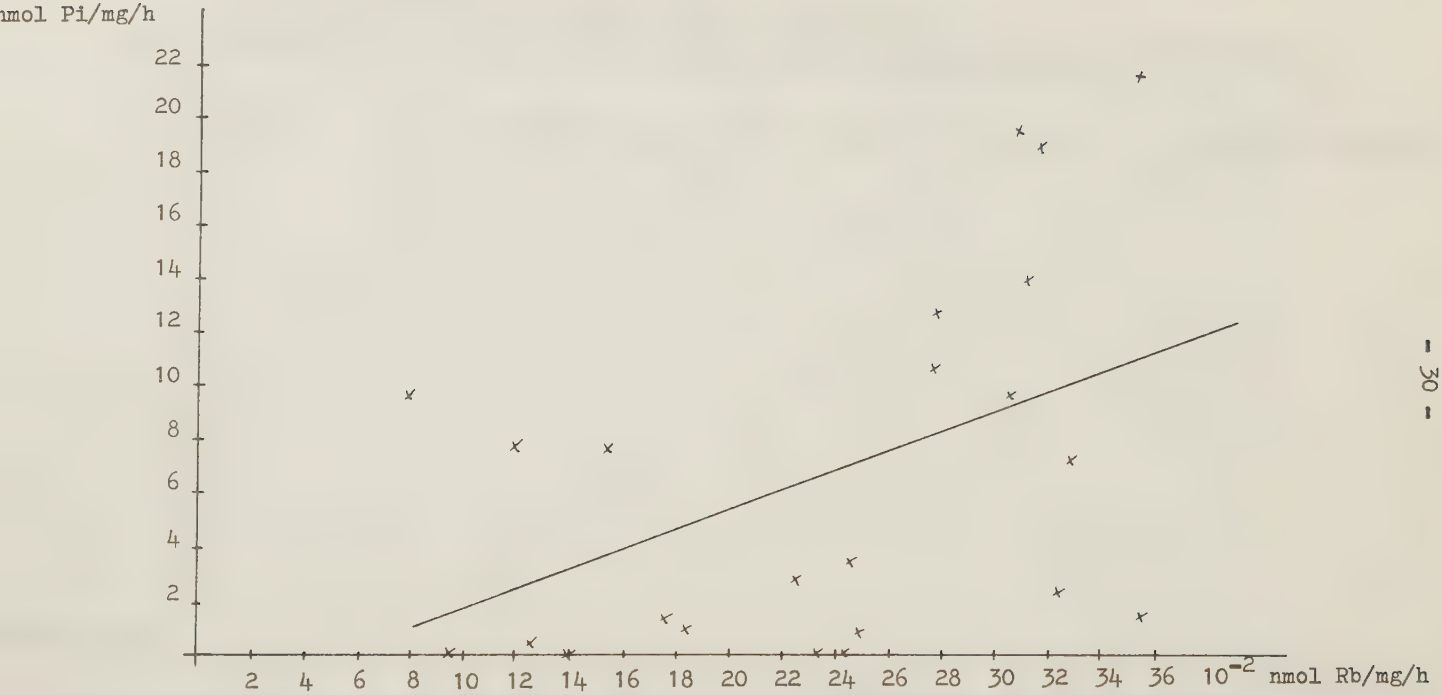

Fig. 6 Korrelation von den Werten der zwei Methoden zur Bestimmung der Aktivität der Na^+K^+ATPase (Rb-Methode in nmol Rb^+/mg/h, Enzymdarstellungsmethode in nmol Pi/mg/h) für die Nierenrinde und das Nierenmark aller 12 Hunde (sowohl digitalisierte als auch Kontrollhunde). Die Gerade beschreibt den Verlauf der Regressionsgeraden.

3.4 Auswirkung der Digitalisierung auf den Serumkaliumspiegel

Im Verlauf von 90 Minuten kam es bei den digitalisierten Hunden zu einem signifikanten Anstieg des Serumkaliumspiegels von 4,0 ± 0,29 auf 4,6 ± 0,36 mval/l ($p<0,006$) (Fig. 7, Tab. 3). Die Kontrollhunde wiesen keine Veränderungen des Serumkaliumspiegels auf (Fig. 8, Tab. 4).

3.5 K^+- Clearance bei Digitalisintoxikation

Bei den fünf digitalisierten Hunden kam es nach einem anfänglichen leichten Abfall der relativen Kaliumclearance nach 60 bzw. 75 Minuten zu einem signifikanten Anstieg von 100 auf 213,7 ± 141,2 ($p < 0,032$) bzw. 305,8 ± 258,5 ($p < 0,035$) (Fig. 9, Tab. 5). Nach 90 Minuten war der Anstieg nicht signifikant.

Die Urinvolumina veränderten sich nicht signifikant über den gesamten Versuch.

Die Kontrolltiere zeigten keine Veränderungen der Kaliumclearance (Fig. 10, Tab. 6).

Serumkaliumspiegel

	digit. Hunde							nicht digit. Hunde					
min.	0	15	30	45	60	75	90	0	15	30	45	60	
Hund													
1	4,1	3,7	4,1	3,5	4,0	3,1	5,1	3,9	-	4,0	-	3,7	mval/l
2	3,7	3,8	3,8	3,9	4,0	4,2	4,2	4,9	4,6	4,6	4,4	4,4	"
3	4,0	3,8	3,8	3,9	4,1	4,3	4,4	4,3	4,1	4,0	3,9	3,9	"
4	3,7	3,7	3,8	3,8	4,1	4,3	4,4	5,3	5,1	4,4	4,6	4,4	"
5	4,4	4,3	-	4,6	4,7	4,6	4,8	4,4	4,3	4,2	4,2	4,1	"
$\bar{x}$	3,98 ±0,29	3,86 ±0,25	3,88 ±0,15	3,94 ±0,40	4,18 ±0,29	4,10 ±0,58	4,58 ±0,36	4,6 ±0,6	4,5 ±0,4	4,2 ±0,3	4,3 ±0,3	4,1 ±0,3	

$p < 0,006$

Tab. 3 Serumkaliumspiegel von fünf Hunden nach Digitalisierung mit 2 µg Novodigal^{R}/kg Kg/min.

Tab. 4 Serumkaliumspiegel von fünf nicht digitalisierten Hunden.

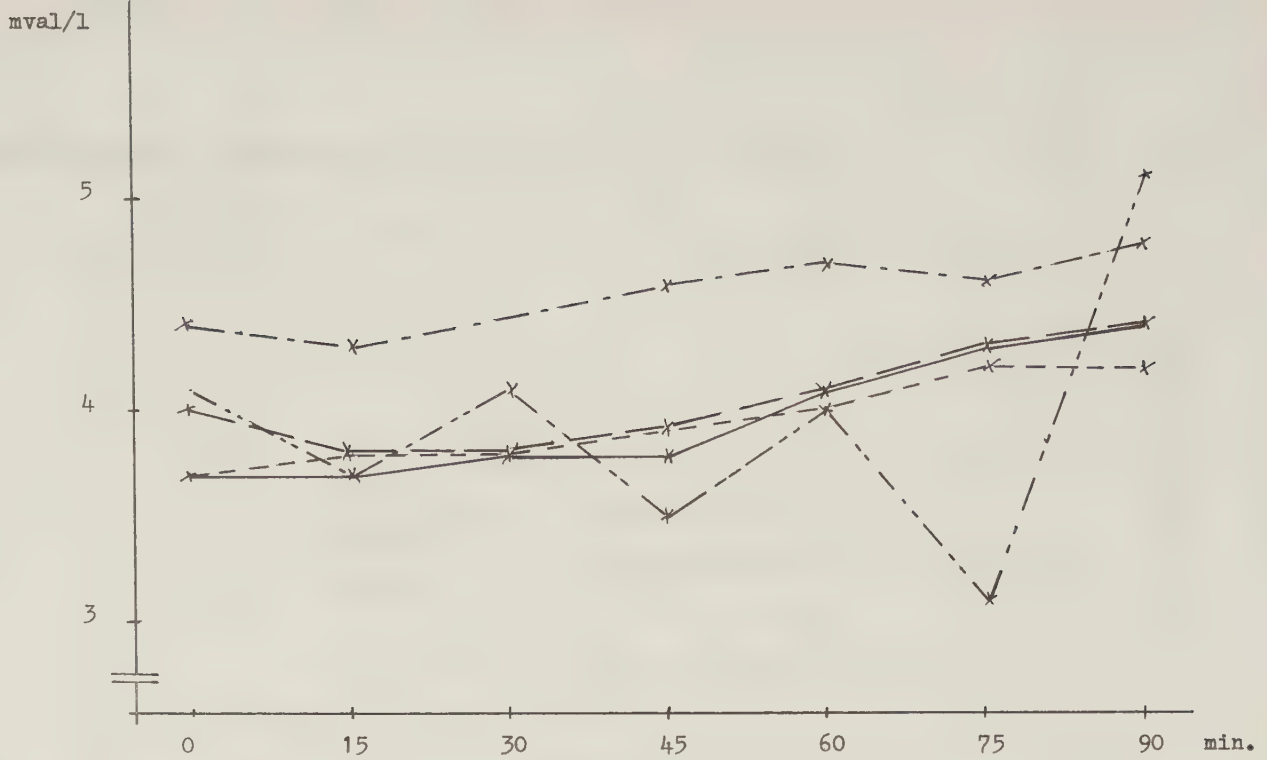

Fig. 7 Serumkaliumspiegel von fünf Hunden nach Digitalisierung mit 2 µg Novodigal^{R}/kg Kg/min.

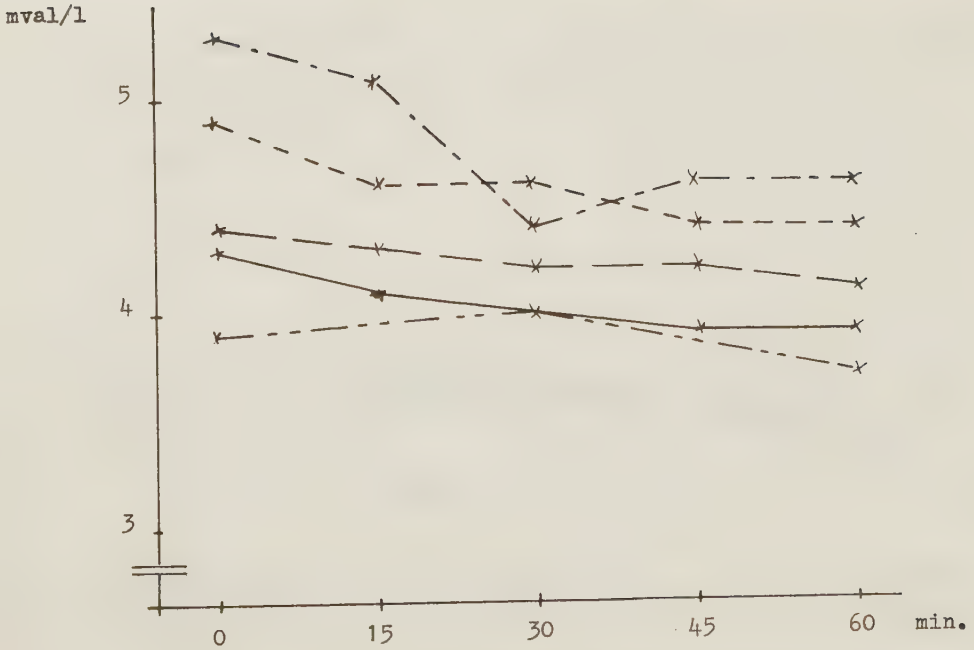

Fig. 8 Serumkaliumspiegel von fünf nicht digitalisierten Hunden.

Relative Kaliumclearance

min	15	30	45	60	75	90
Hund						
1	100	89	132	222	278	181
	100	111	187	295	385	236
2	100	74	188	238	146	95
	100	61	132	197	151	22
3	100	89	85	65	109	64
	100	94	103	62	117	48
4	100	82	170	435	770	1047
	100	88	176	435	770	1241
5	100	-	42	105	147	331
	100	-	59	83	185	399
$\bar{x}$		86 ±14,6	127,4 ±53,6	213,7 ±141,2	305,8 ±258,5	366,4 ±4304,4

—— n.s. —

———— n.s. ——

———————— p < 0,032 ——

———————————— p < 0,035 ———

———————————————————— n.s. ————

Tab. 5 Kaliumclearance von fünf Hunden nach Digitalisierung mit 2 µg Novodigal^{R}/kg Körpergewicht/min. Es wurde die Clearance beider Nieren bestimmt. Der 15-Minuten-Clearance-Wert eines jeden Hundes wurde als Bezugswert genommen (entspr. 100).

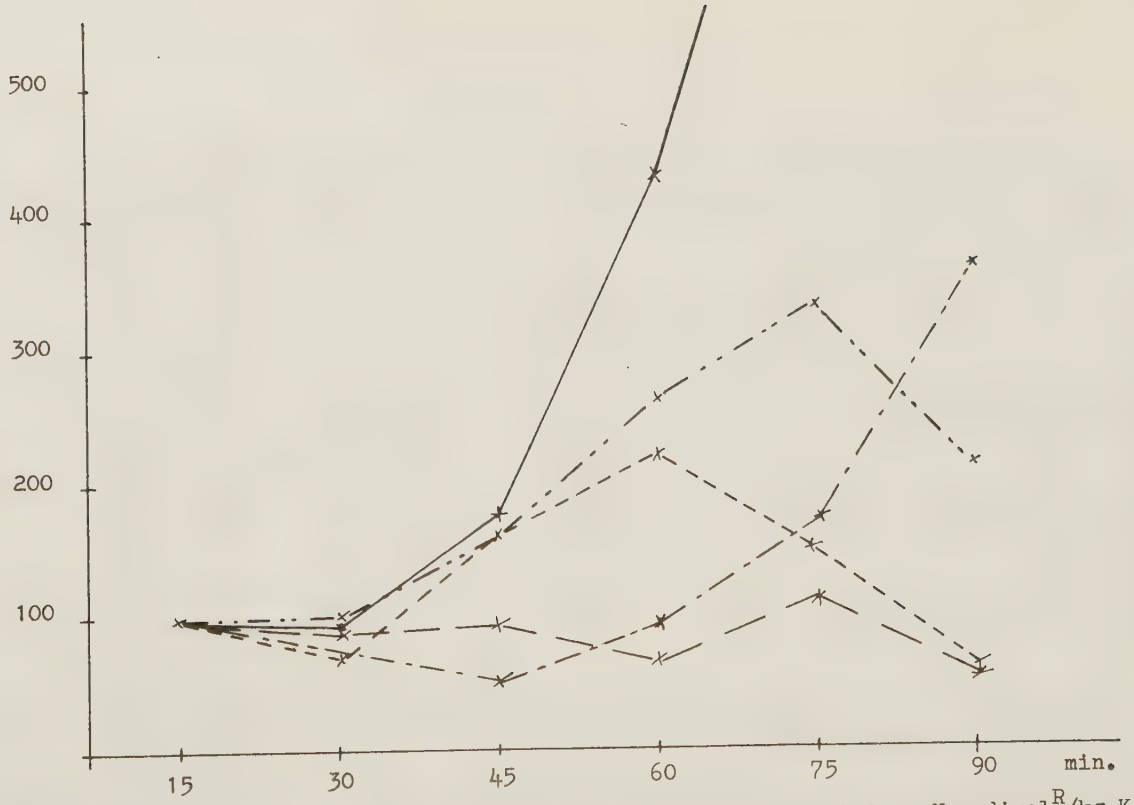

Fig. 9 Kaliumclearance von fünf Hunden nach Digitalisierung mit 2 µg Novodigal^{R}/kg Kg/min. Der 15-Minuten-Clearance-Wert eines jeden Hundes wurde als Bezugswert genommen (entspr.100).

Relative Kaliumclearance

min	15	30	45	60
Hund				
1	-	100	-	62
	-	100	-	36
2	100	52	32	64
	100	47	26	37
3	100	49	30	33
	100	60	60	59
4	100	174	149	130
	100	118	245	222
5	100	114	33	43
	100	107	35	38
$\bar{x}$		92,1	76,3	72,4
		±40,5	±79,5	±59,9
		n.s.	n.s.	n.s.

Tab. 6 Relative Kaliumclearance von fünf nicht digitalisierten Hunden.

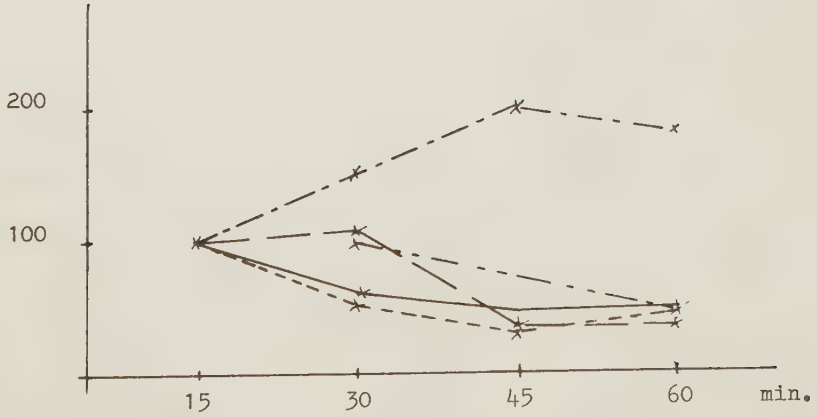

Fig. 10 Relative Kaliumclearance von fünf nicht digitalisierten Hunden.

3.6 Serumdigoxinspiegel und EKG

Nach Digitalisierung der Versuchstiere stieg der Serumdigoxinspiegel innerhalb von 90 min. auf 138,6 ± 27,4 ng/ml (Mittelwert, Standardabweichung). Aus dem Verlauf der Kurve ließ sich ein linearer Anstieg ablesen (Tab. 7, Fig. 11).

Als eine Dosis von 120 µg/kg Körpergewicht Digoxinum erreicht war, zeigten sich im EKG der Hunde Herzrhythmusstörungen. Zuerst waren es mono- bzw. polytope Extrasystolen, die in intermittierende Kammertachykardien übergingen, aus denen die versuchsbeendende konstante Kammertachykardie hervorging.

Serumdigoxinspiegel

min	0	15	30	45	60	75	90	
Hund 1	0	33,6	52,8	59,8	68,4	77,2	108,0	ng/ml
2	0	38,0	26,4	72,0	90,4	96,0	-	"
3	0	38,0	54,0	66,0	70,0	158,0	182,0	"
4	0	51,8	68,0	81,6	108,0	136,0	140,0	"
5	0	43,4	66,0	78,6	92,8	112,0	137,8	"
6	0	57,8	-	109,4	98,6	108,7	125,0	"
$\bar{x}$		43,8 ±9,3	53,4 ±16,6	77,9 ±17,4	88,0 ±15,8	114,6 ± 28,7	138,6 ±27,4	

Tab. 7 Serumdigoxinspiegel in ng/ml von sechs Hunden nach Digitalisierung mit 2 µg Novodigal^{R}/kg Körpergewicht/min.

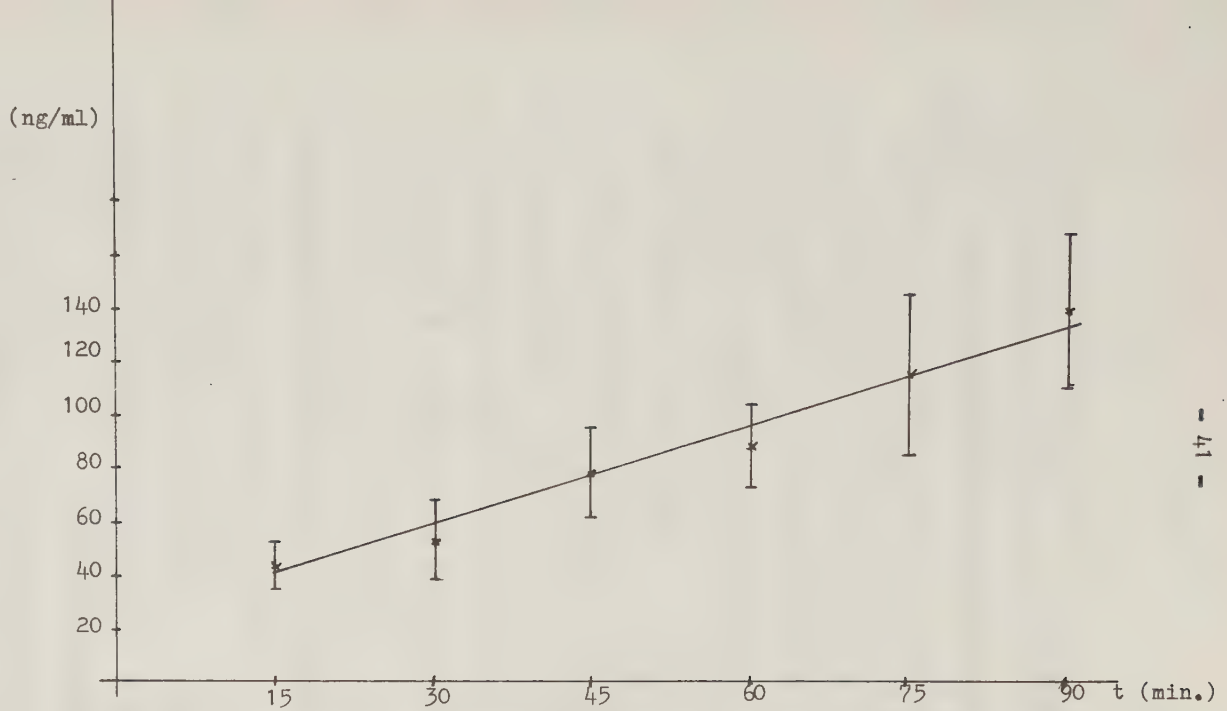

Fig. 11 Verlauf des Digoxinserumspiegels bei Digitalisierung mit 2 µg Novodigal/kg Kg/min. Die Werte entsprechen dem Mittelwert von 6 Hunden, wobei die Standardabweichung mit eingezeichnet ist.

4 Diskussion

Anlaß zu unseren Untersuchungen gaben in der Klinik beobachtete Hyperkaliämien bei überdigitalisierten Patienten speziell bei Patienten, die Digitalis in suizidaler Absicht genommen haben (C. Bismuth 1973, O. A. Beck et. al. 1974). Diese Hyperkaliämie war auch in unseren Tierversuchen zu erkennen. Der Serumkaliumspiegel stieg bei Digitalisierung mit 2 µg/kg Körpergewicht/min. innerhalb von 90 Minuten im Durchschnitt um 15 % von 4,0 ± 0,29 auf 4,6 ± 0,36 mval/l.

Physiologischerweise findet ständig ein Ionenaustausch zwischen Zelle und Interstitium statt, wobei unter anderem aktiv durch die Na^+K^+ATPase Natriumionen aus der Zelle in das Interstitium und Kaliumionen aus dem Interstitium in die Zelle gepumpt werden (J. C. Skou 1965). Dieser Mechanismus ist durch Herzglykoside hemmbar, so daß bei Digitalisierung eine interstitielle Kaliumerhöhung resultiert (J. C. Skou 1965). Daraus folgerte P. Balint schon 1969, daß bei Hemmung der Na^+K^+- Pumpe eine Hyperkaliämie entsteht.

Ebenfalls gehemmt wird die Na^+K^+ATPase in der Niere (J. Torretti 1972, B. R. Nechay 1974), was wir in unseren Versuchen für die Nierenrinde und das Nierenmark auch nachweisen konnten.

Durch diese Enzymhemmung wird die K^+- Reabsortion, die nach K. Hierholzer 1976 im gesamten Tubulussystem sowohl proximal als auch distal als aktiver Prozeß stattfindet, herabgesetzt.

Eine erhöhte Kaliumausscheidung mit dem Urin, wie sie G. Senft 1964, C. G. Duarte 1971 und B. R. Nechay 1974 beschrieben, konnten wir ebenfalls feststellen. Es kam zu einer signifikanten Erhöhung der Kaliumclearance, nachdem wir 60 bzw. 75 Minuten Novodigal^R infundiert hatten. Danach veränderte sich die K^+- Ausscheidung insoweit, als nach 90 Minuten kein signifikanter Unterschied zum Ausgangswert mehr vorhanden war, da bei drei von fünf Hunden im Zeitraum von 75 bis 90 Minuten die Kaliumclearance abfiel. Es läßt sich vermuten, daß das erhöhte K^+- Angebot im distalen Tubulus eine verminderte K^+- Sekretion bewirkt (C. G. Duarte et. al. 1971). Da die K^+-Sekretion ein von der Na^+K^+ATPase unabhängiger passiver Prozeß ist (K. Hierholzer), läßt sich eine Sekretionsverminderung nicht über eine Hemmung der Na^+K^+ATPase erklären. Im Gegensatz dazu steht die Ansicht F. O. Finkelsteins (1975), der auch die K^+-Sekretion als einen an die Na^+K^+ATPase gebundenen Prozeß sieht.

Durch langsame Erhöhung der K^+- Ausscheidung, ist es denkbar, daß es nach einiger Zeit wieder zu

einem Ausgleich der anfänglichen Hyperkaliämie zu Normalwerten und darüber hinaus zu einer Hypokaliämie kommen kann, wie sie von E. K. Chung 1969 beschrieben wurde.

Es sind also kaum Rückschlüsse von Kaliumwerten auf Digoxinwerte zu ziehen oder umgekehrt, d. h. man benötigt immer beide Werte, um irgendwelche Aussagen über die Medikation der Tiere machen zu können und was viel wichtiger ist, um bei Digitalisintoxikationen in der Klinik bzw. Praxis richtig zu therapieren. Will man eine Digitalisintoxikation mit Kaliumsalzen behandeln (K. Greeff 1963, E. Erdmann 1976) - Kalium verdrängt Digitalis an der Rezeptorstelle kompetitiv (E. Erdmann 1976) -, so ist vorher eine, wie oben beschrieben, bestehende Hyperkaliämie auszuschließen.

Die Übertragung der Ergebnisse aus den Versuchen am Hund auf den Mensch ist insofern möglich, als B. R. Nechay 1971 in vergleichenden Untersuchungen nachweisen konnte, daß sich die Aktivitäten der Na^+K^+ATPase in der Niere bei Mensch und Hund nicht wesentlich unterscheiden.

Unsere Untersuchungen galten neben den K^+- Veränderungen auch dem Vergleich zweier Methoden zur Bestimmung der Enzymaktivität der Na^+K^+ATPase in der Niere. Bei der einen Methode wird die Na^+K^+ATPase abhängige Aufnahme von Rubidium in die Zelle bestimmt

(T. J. Hougen 1977), im zweiten Verfahren wird das Enzym aus Microsomen dargestellt. Zur Enzymdarstellung gibt es unterschiedliche Verfahrensweisen (P. L. Jörgensen 1970, B. J. Pitts 1973, H. Wald 1974). Hiernach sedimentiert das membrangebundene Enzym bei Zentrifugationen zwischen 1000 und 100 000 g. Durch Zugabe verschiedener Detergentien wie DOC (sodium desoxycholate) oder SDS (sodium dodecylsulphate) wird eine bestmögliche Enzymdarstellung erzielt. Die Hydrolyse von ATP durch das Enzym wird gemessen.

Wir fanden in der Nierenrinde eine Enzymaktivität von 18,5 $\pm$ 5,4 nmol P_i/mg Gewebe/h bzw. 0,237 $\pm$ 0,083 nmol Rb^+- Aufnahme/mg Gewebe/h. Für die Medulla der Niere beliefen sich die Werte auf 6,02 $\pm$ 5,2 nmol P_i/ mg Gewebe/h bzw. 0,3 $\pm$ 0,064 nmol Rb^+- Aufnahme/ mg Gewebe/h.

Die bereits von J. C. Skou 1957 beschriebene Hemmung der Na^+K^+ATPase - Aktivität durch Ouabain ist nach in vivo Gabe mit beiden Methoden nachweisbar; entsprechende Ergebnisse erhielten T. W. Smith 1972 und T. J. Hougen 1977 für die Rubidiummethode sowie J. Torretti 1972 und B. R. Nechay 1974 für die Enzymdarstellungsmethode.

Nach Digitalisierung fanden wir folgende Enzymaktivitäten: 5,13 $\pm$ 3,62 P_i/mg Gewebe/h bzw. 0,158 $\pm$ 0,063 nmol Rb^+/mg Gewebe/h der Nierenrinde

und 0,32 ± 0,44 nmol P_i/mg Gewebe/h bzw. 0,188 ± 0,066 nmol Rb^+/mg Gewebe/h im gesamten Nierenmark. Das bedeutet eine sichtbare Enzymhemmung in beiden Methoden, sowohl in der Nierenrinde als auch in der gesamten Nierenmarksschicht durch Digoxingabe (Tab. 1 u.2). Vergleicht man die Hemmung der Na^+K^+ATPase der beiden Methoden untereinander, so ergibt sich, daß die überdigitalisierten Hunde in der Enzymdarstellungsmethode eine stärkere Hemmung in beiden untersuchten Nierenabschnitten aufzeigen, als diese in der Rubidiummethode nachgewiesen werden konnten.

Bemerkenswert ist, wie oben bereits beschrieben, daß keine wesentlichen Unterschiede der Aktivitäten zwischen Cortex und Medulla bei der Rubidiummethode wohl aber bei der anderen Methode vorliegen.

Die Gegenüberstellung der gemessenen Enzymaktivitäten der beiden Methoden unter Berücksichtigung aller Hunde ergab für den Nierenrindenbereich eine positive lineare Korrelation mit $r = +0{,}69$ ($p < 0{,}02$) und für das Nierenmark eine zwar positive ($r = +0{,}55$) jedoch nicht signifikante Korrelation. Betrachtete man alle Wertepaare von Cortex und Medulla zusammen, so ergab sich eine positive Korrelation mit $r = +0{,}46$ ($p < 0{,}03$).

Trotz zweier verschiedener Wirkungsmechanismen der Na^+K^+ATPase läßt sich also zumindest für die

Nierenrinde von Werten der Rubidiummethode auf Werte der Enzymdarstellungsmethode bzw. umgekehrt schließen.

Will man die Verfahren bezüglich ihres Arbeitsaufwands vergleichen, so ist zu sagen, daß die Rubidiummethode ein Viertel des Zeitaufwandes bedarf,den man für die Enzymdarstellung mit anschließender Phosphorbestimmung benötigt.
Da man bei der Rubidiummethode mit nur geringen Mengen Gewebe zur Enzymaktivitätsbestimmung auskommt, besteht hier die Möglichkeit, bioptisch gewonnenes Material zu untersuchen.

Wie oben beschrieben, ist die Na^+K^+ATPase für die Funktion der Nieren von entscheidender Bedeutung. Somit könnte bei zu transplantierenden Nieren die Bestimmung der Aktivität der Na^+K^+ATPase ein Maß für die Funktionstüchtigkeit der Niere sein (S. Pettersson 1973).

5 Zusammenfassung

Bei unseren Versuchen sollte der Einfluß von Digoxin auf den Serumkaliumspiegel und die Kaliumclearance bei Hunden untersucht werden.
Die Aktivität der Na^+K^+ATPase in Medulla und Cortex der extirpierten Nieren wurde über die Rubidium- - (Na^+K^+-Pumpe) und die Enzymdarstellungsmethode (Spaltung von ATP durch freigesetztes Enzym) bestimmt.

5.1
Digitalisierte man Hunde mit 2 µg Digoxin/kg Körpergewicht/min, so ergab sich nach 90 Minuten ein mittlerer Anstieg des Serumkaliumspiegels um 15%.

5.2
Die Kaliumclearance derslben Hunde stieg nach 60 bzw. 75 Minuten signifikant an.

5.3
Digitalisierte Hunde hatten in der Niere eine niedrigere Aktivität der Na^+K^+ATPase als nicht digitalisierte Hunde; dies ließ sich durch zwei verschiedene Verfahren nachweisen (Rubidiummethode, Enzymdarstellungsmethode).
Daraus ergibt sich, daß herzwirksame Glykoside zumindest in hoher Dosierung eine Wirkung am Nierentubulus haben. Diese Wirkung erklärt auch den Anstieg der Kaliumclearance (s.o.).

5.4

Für den Cortexbereich der Niere ließ sich eine positive lineare Korrelation zwischen den beiden Bestimmungsmethoden erkennen. Für den Medullabereich ist keine signifikante Korrelation zu beweisen. Das bedeutet, die Werte der beiden Methoden sind nur teilweise vergleichbar.

6 Literaturverzeichnis

1. Balint P.: Normale und pathologische Physiologie der Nieren. VEB Verlag Volk und Gesundheit Berlin S. 162f 1969.

2. Beck O.A., K.-D. Krämer, H. Hochrein: Verlauf einer suizidalen Digoxinintoxikation mit Hyperkaliämie. Dtsch med Wschr. 99, 756-764 1974.

3. Bernstein J.C., Y. Israel: Active transport of Rb^{86} in human red cells and rat brain slices. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. 174, 323-329 1970.

4. Bismuth C., M. Gaultier, M. Bonnet, J. Pollet: L'Hyperkaliemie dans l'Intoxication Digitalique Massive. Biomedicine. 19, 152-155 1973.

5. Bonting S.L., K.A. Simon, N.M. Hawkins: Studies on 'Sodium Potassium Activated Adenosine Triphosphatase'. Archives of Biochemistry Biophys. 95, 416-423 1961.

6. Castronovo F.P.,P.A. Mc Intyre, H.S. Stern: The standardization of a reproducible in vitro technique for the measurement of ^{86}Rb uptake in the human erythrocyte. International J. of Applied Radiation and Isotopes. 19, 781-788 1968.

7. Chung E.K.: Digitalis Intoxication. Excerpta Medica Foundation Amsterdam 1969.

8. Deetjen P., J.W. Boylen, K. Kramer: Niere und Wasserhaushalt. Physiologie des Menschen 7, 3. Auflage Gauer, Kramer, Jung. Urban & Schwarzenberg 1976.

9. Dransfeld H., K. Greeff: Der Einfluß des Prednison- und Prednisolonbisguanylhydrazons auf die Na^+ und K^+-stimulierte Membran-ATPase des Meerschweinchens. Arch. exp. Path. Pharmak. 249, 425 1964.

10. Dransfeld H., K. Greeff, H. Berger, V. Cautius: Die verschiedene Empfindlichkeit der $Na^+ + K^+$ aktivierten ATPase des Herz- und Skelettmuskels gegen K-Strophantin. Arch. exp. Path. Pharmak. 254, 225 1966.

11. Duarte C.G., F. Chomety, G. Giebisch: Effect of amiloride, ouabain and furosemide on distal tubular function in the rat. Am. J. Physiol. 221 (2), 632-640 1971.

12. Epstein F.H., P. Silva: Role of Sodium, Potassium-ATPase in renal function. Ann. N.Y. Acad. Sci. 242, 519-526 1974.

13. Erdmann E.: Klinische Bedeutung experimenteller Befunde zur Wirkungsweise der Herzglykoside. Herz/Kreislauf 8 (8), 433-437 1976.

14. Finkelstein F.O., J.P. Hayslett: Role of Medullary Na-K-ATPase in renal potassium adaptation. Am. J. Physiol. 229 (2), 524-528 1975.

15. Fisher K.A., L.G. Welt, J.P. Hayslett: Dissociation of Na-K-ATPase specific activity and net reabsorption of sodium. Am. J. Physiol. 228, 1745-9 1975.

16. Fiske C.H., Y. Subbarow: The colorimetric determination of phosphorus. J. Biol. Chem. 66, 375 1925

17. Giebisch G. et.al.: Renal tubular transfer of sodium, chloride and potassium. Am. J. Med. 36, 643 1964.

18. Gottschalk C.W.: Micropuncture studies of tubular function in the mamalian kidney. Physiologist 4, 35-39 1961.

19. Greeff K.: Zur Pharmakologie der herzwirksamen Glykoside. Klinische Physiologie, Thieme Verlag 1963.

20. Hahn L.A., G.Ch. Hevesy, O.H. Rebbe: Do the potassium ions inside the muscle cells and blood corpuscles exchange with those present in the plasma. Biochem. J. 33, 1549 1939.

21. Hierholzer K.: Transtubulärer Elektrolyttransport 3. Symposion der Gesellschaft für Nephrologie 1964 Berlin. Normale und pathologische Funktion des Nierentubulus. H. Huber Verlag.

22. Hierholzer K., K.J. Ullrich: Physiologie der Niere in Nierenkrankheiten Hans Sarre. 4. Auflage Thieme Verlag 1976.

23. Hougen T.J., T.W. Smith: Inhibition of myocardial monovalent cation active transport by subtoxic

doses of ouabain in the dog. Circ. Res. 42, 856 1978.

24. Hougen T.J., B.E. Hopkins, T.W. Smith: Insulineffect on monovalent cation transport and Na-K-ATPase activity. Am. J. Physiol. 234 (3) 59-63 1978.

25. Jörgensen P.L., J.C. Skou: Preparation of highly active (Na^+ + K^+) ATPase from outer medulla of rabbit kidney. Biochem. Biophys. Res. Com. 37, 39 1969.

26. Jörgensen P.L.: Purification and characterization of (Na^+ + K^+) ATPase. Estimation of the purity and of the molecular weight and polypeptide content per enzyme unit in preparation from the outer medulla of rabbit kidney. Biochim. Biophysic. Acta. 356, 53-67 1974.

27. Katz A.I., F.H. Epstein: Physiologic role of sodium-potassium activated adenosine triphosphatase in the transport of cations across biologic membranes. New Eng. J. Med. 278, 253-261 1968.

28. Lindenmayer G.E., L.K. Lane, A. Schwartz: Effect of sodium and potassium on the partial reactions of highly purified (Na^+ plus K^+)-ATPase. Ann. N.Y. Acad. Sci. 242, 235-245 1974.

29. Lipmann F.: Metabolic generation and utilization of phosphate bound energy. Adv. Enzymol. 1, 71 1941.

30. Nechay B.R. et.al.: Characteristics and distribution of $Na^+ + K^+$ ATPase in human kidney. Fed. Proc. 30 (2), 322 1971.

31. Nechay B.R.: Relationship between inhibition of renal $Na^+ + K^+$ ATPase and natriuresis. Ann. N.Y. Acad. Sci. 242, 501- 518 1974.

32. Noack E.A.: Der Kaliumtransport an Herzmuskelmitochondrien und seine Beeinflußbarkeit durch k-Strophantin. Dissertation Düsseldorf 1966.

33. Pettersson S., Scherstén T.: Sodium-potassium-stimulated adenosine triphosphatase (Na^+, K^+-ATPase) activity in human kidney tissue. Europ. Surg. Res. 5, 282-291 1973.

34. Pitts B.J., L.K. Lane, A. Schwartz: Nature of the Transport ATPase-Digitalis Complex. Purification of and ouabain binding to a highly active cardiac Na^+, K^+-ATPase. Biochem. Biophys. Res. Commun. 53 (4), 1060-1066 1973.

35. Rehberg P.B.: The rate of filtration and reabsorption in human kidney. Biochem. J. 20, 447 1926.

36. Ringer S.: An investigation regarding the action of Rb and Cs salts compared with the action of potassium salts on the ventricle of the frog's heart. J. Physiol. 4, 370 1882.

37. Risler T., J.C. Somberg, T.W. Smith: The role of the central nervous system in digitalis toxicity: Further evidence for a protective effect of C_1 spinal cord transection. Am.J.Physiol. 235H, 531-536 1978

38. Schatzmann H.J.: Herzglykoside als Hemmstoffe für den aktiven Kalium- und Natriumtransport durch die Erythrocytenmembran. Helv. physiol. pharmacol. acta 11, 345 1953.

39. Senft G.: Membrantransport und Pharmaka. 3. Symposion der Gesellschaft für Nephrologie 1964 Berlin. Normale und pathologische Funktion des Nierentubulus. H. Huber Verlag 1964.

40. Skou J.C.: The influence of some cations on adenosine triphosphatase from peripheral nerves. Biochim. Biophys. Acta 23, 394-401 1957.

41. Skou J.C.: Further investigation on a $Mg^{++}+Na^{+}$ activated adenosinetriphosphatase possibly related to the active linked transport of Na^{+} and K^{+} across the nerve membrane. Biochim. Biophys. Acta 42, 6 1960.

42. Skou J.C.: Enzymatic basis for active transport of Na^{+} and K^{+} across cell membrane. Physiol. Rev 45, 596-617 1965.

43. Smith T.W., V.P. Butler jr, E. Haber: Determination of therapeutic and toxic serum digoxin concentrations by radioimmunoassay. New Eng. J. Med. 281(2) 1212 1969.

44. Smith T.W., R. Selden: Ouabain pharmacokinetics in dog and man determination by radioimmunoassay. Circulation 45, 1176-1182 1972.

45. Solomon A.K.: The permeability of the human erythrocyte to sodium and potassium. J. gen. Physiol. 36, 57 1952.

46. Torretti J., E. Hendler, E. Weinstein, R.E. Longnecker, F.H. Epstein: Functional significance of Na^+K^+ATPase in the kidney: Effect of ouabain inhibition. Am. J. Physiol. 222 (6), 1398-1405 1972.

47. Yalow R.S., S.A. Berson: Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. J. Clin. Invest. 39, 1157 1960.

48. Wald H., Y. Gutman, W. Czaczkes: Comparison of microsomal ATPase in the cortex, medulla and papilla of the rat kidney. Pfügers Arch. 352, 47 1974.

49. Wellhöner H.H.: Allgemeine und systematische Pharmakologie und Toxikologie. Springer Verlag 1976 S.82.

L e b e n s l a u f

Ich, Wolfgang Jenkel, wurde am 24.8.1951 als Sohn des Schachtmeisters Paul-Friedrich Jenkel und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Behnke in Bennin in Mecklenburg geboren und evangelisch getauft.
Im Jahre 1953 zogen meine Eltern mit meinem älteren Bruder und mir von Bennin nach Neukirchen-Vluyn, Kreis Wesel, um. In Vluyn besuchte ich ab Ostern 1958 die Pestalozzischule. Ende des 4. Schuljahres bestand ich die Aufnahmeprüfung am Julius-Stursberg-Gymnasium zu Neukirchen und wurde dort Ostern 1962 in die Sexta aufgenommen. Im Juni 197o legte ich die Reifeprüfung an diesem Gymnasium ab.
Im September 197o begann ich ein Apothekerpraktikum in der Marien-Apotheke in Hüls bei Krefeld, das ich im September 1972 nach bestandener pharmazeutischer Vorprüfung beendete. Danach war ich für ein Jahr in derselben Apotheke als Vorexaminierter tätig.
Vom 1. Oktober 1973 bis Dezember 1974 leistete ich meinen Wehrdienst ab.
Zu Beginn des Sommersemesters 1975 nahm ich das Medizinstudium an der Universität Düsseldorf auf. Das Studium dauert zur Zeit noch an.
Seit September 1973 bin ich mit Gisela Jenkel, geb. Szücs verheiratet.

L e b e n s l a u f

Am 1o.3.1956 wurde ich, Jens Friedrich Sander, als zweiter Sohn des Diplom Ingenieurs Otto Sander und seiner Ehefrau Hildegard Sander, geb. Hohl in Hamburg geboren und evangelisch getauft.

Von 1962 bis 1966 besuchte ich die Grundschule in Pinneberg.

1966 sind meine Eltern nach Düsseldorf verzogen. Hier besuchte ich den mathematisch - naturwissenschaftlichen Zweig des Gerresheimer Gymnasiums und bestand 1974 die Reifeprüfung.

Zum Sommersemester 1975 nahm ich das Medizinstudium an der Universität Düsseldorf auf. Die ärztliche Vorprüfung legte ich im März 1977 ab.

Zur Zeit absolviere ich das Praktische Jahr am Sankt Antonius Klinikum in Wuppertal. Im Frühjahr 1981 hoffe ich, das Studium mit der ärztlichen Prüfung zu beenden.

Wir danken Herrn Prof.Dr.med. B. Grabensee für die Überlassung dieser Arbeit und die Bereitstellung aller Mittel zu ihrer Durchführung.
Herrn Prof.Dr.med. G. Arnold danken wir für die Bereitstellung eines Tierlabors.
Herrn Dr.med. T. Risler gilt unser Dank für seine freundliche Unterstützung bei der Ausführung dieser Arbeit.